

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität in Graz. (Vorstand: Prof. J. Kratter.)

## Erfahrungen mit der Marx-Ehrnroothschen Methode zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut.

Von Dr. Hermann Pfeiffer.

In den Nummern 7 und 16 der Münchener medizinischen Wochenschrift dieses Jahrganges veröffentlichten Marx und Ehrnrooth (1) eine neue, einfache Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Trotzdem wir nun, was in ihren Arbeiten die Autoren ausdrücklich hervorheben, in der Präzipitinprobe (2, 3) eine innerhalb weiter Grenzen und unter bestimmten Kautelen sehr wertvolle und exakte Methode zur Unterscheidung menschlicher und tierischer Eiweißlösungen, beziehungsweise Blutsorten besitzen, so erscheint dennoch eine neue und dabei so einfach zu handhabende Methode wie die jüngst angegebene um so wertvoller, als, wie erst kürzlich Hauser (4) wieder hervorhob, die Präzipitinreaktion, was die Gewinnung leistungsfähiger Seren, die richtige Beurteilung des positiven oder negativen Ausfalles der Reaktion anlangt, immerhin Fachkenntnis, Übung und vor allem viel Zeit und Mühe erfordert. Würde sich also dieses neue Verfahren auch nur als eine Neben- und Hilfsprobe, als welche es die Autoren anführen, neben der Präzipitinprobe behaupten können, so wäre damit der forensen Praxis, was die Sicherheit des Urteils im einzelnen Fall betrifft, ein wesentlicher Dienst geleistet.

Im Auftrage meines verehrten Chefs, des Herrn Prof. J. Kratter, dem ich an dieser Stelle für die Zuweisung des Themas und das große Interesse, das er meinen Versuchen entgegenbrachte, meinen aufrichtigsten Dank sage, ging ich nun daran, diese neue Methode auf ihre Leistungsfähigkeit zu prüfen.

Das Marx-Ehrnroothsche Verfahren beruht bekanntlich auf der von Landois (5) gewonnenen Erkenntnis, daß die Erythrozyten einer Tierart A von dem Serum einer zweiten, nicht allzu nahe verwandten Tierart B unter gleichzeitiger Auflösung agglutiniert werden, während homologe Seren diese Reaktion im allgemeinen nicht erkennen lassen.

Die Vorschrift, welche die Autoren in ihrer ersten Mitteilung für die Technik ihres Verfahrens geben, ist kurz wiederholt folgende: Herstellung einer möglichst konzentrierten Lösung des zu untersuchenden Blutflecks mit 0,6%iger Kochsalzlösung. Dieser Lösung, die von braunroter Farbe sein soll, wird auf dem Objektträger ein Tropfen frischen, der Fingerbeere entnommenen Menschenbluts zugesetzt und innig mit ihr vermischt. Handelt es sich um eine heterologe Blutsorte, so muß innerhalb von 15 Minuten bei Zimmertemperatur eine deutlich wahrnehmbare Ballung und Klumpung der Erythrozyten, Auftreten von Stechapfelformen unter Austritt von Hämoglobin und endlicher Auflösung in die Erscheinung treten, während bei einer den zugesetzten Blutkörperchen homologen Eiweißlösung diese nicht nur nicht agglutiniert werden, sondern innerhalb der auf 15 Minuten beschränkten Beobachtungszeit keinerlei Veränderung ihrer Form und Tinktion zu beobachten ist. Es wird also aus dem negativen Ausfall der Probe auf die Anwesenheit einer den verwendeten Blutkörperchen homologen Eiweißlösung geschlossen.

Sehen wir zunächst von den Fehlerquellen ganz ab, die in

den von Landsteiner (6) zuerst beschriebenen Isoagglutininen gegeben sind, auf welche die Autoren schon in ihrer ersten Mitteilung hinwiesen und um derentwillen sie in ihrer zweiten Publikation eine ihnen Rechnung tragende Modifikation ihrer Methode veröffentlichen, worauf ich später ausführlicher zurückkommen will.

Bei der Nachprüfung dieser ersten Angaben galt es zunächst, an genuinem Blut, beziehungsweise Serum homologer und heterologer Art die Erscheinungen des positiven und negativen Ausfalles der Probe zu studieren, worüber folgender Versuch belehren möge:

Versuch 1. Zur Untersuchung wurde verwendet: 1. Rinder-, 2. Schweine-, 3. Kaninchen- und 4. Menschenserum. Diese Seren waren frisch und steril.

Die vier Objekte werden genau nach der von den Autoren gegebenen Vorschrift mit je einem Tropfen frischen Menschenblutes behandelt. Innerhalb weniger Augenblicke erscheinen die Blutkörperchen der ersten drei Präparate schon dem freien Auge zu kompakten, netzförmig verzweigten, rotbraunen Linien agglutiniert, während in Probe 4 eine gleichmäßige Verteilung der Erythrozyten wahrzunehmen ist. Unter der schwachen und starken Vergrößerung erscheinen die ersten drei Proben von klumpig angeordneten, gequollenen, hochgradig deformierten Blutkörperchen (Stechapfelformen) gebildet, während bei 4 ihre Verteilung eine vollständig gleichmäßige, ihre Form eine ganz unveränderte ist. Die Präparate werden nun mit einem Deckglase bedeckt und durch Paraffinumrahmung vor Vertrocknung geschützt. Es können auch am nächsten Tage noch homologe und heterologe Lösungen deutlich voneinander unterschieden werden. Der vollständig eindeutige Ausfall dieses ersten Versuches bewies mir nun die Marx-Ehrnroothsche Angabe, daß es nach ihrer Methode tatsächlich gelinge, homologe von heterologen Eiweißlösungen zu unterscheiden.

Ich beschränkte mich in meinen Versuchen auf die hier angeführten Serum-, beziehungsweise Blutsorten und das später zu erwähnende Vogelblut, da ja Marx und Ehrnrooth selbst eine beträchtliche Anzahl von Blutarten untersuchten, gewissermaßen hier die von Nutall (7) für die Präzipitinreaktion angestellten Versuche herangezogen werden können und endlich andere, wichtigere Fragen mein Interesse in Anspruch nahmen. Da nun in der forensen Praxis die Fälle selten so liegen, daß man frisches Blut oder gar unverdorbene Seren als Untersuchungsobjekte erhält, sondern man meistens alte, vertrocknete, halbverfaulte und den Einflüssen der Witterung längere Zeit hindurch ausgesetzte Blutflecke zur Untersuchung zugewiesen erhält, Blutflecke also, die einerseits ihres Alters und verschiedener Einflüsse wegen, andererseits durch ihre Kleinheit es dem Praktiker oft verwehren, konzentrierte Eiweißlösungen darzustellen, und ihn zwingen, aus diesem Material mit apodiktischer Sicherheit seine Schlüsse zu ziehen, so war es zunächst wichtig, die Verdünnungsgrenzen zu bestimmen, innerhalb welcher heterologe Seren mit Menschenblut noch einen deutlich positiven Ausfall der Reaktion geben.

Darüber wurden nun folgende Versuche angestellt:

Versuch 2. Rinder- und Schweineserum wird in ansteigendem Verhältnis bis zu einem Verdünnungswert von 1 Teil Serum: 2048 Teilen 0,6%iger Kochsalzlösung verdünnt. Es wurden diese Proben auf dem Objektträger mit einem Tropfen meines Blutes behandelt. Sofort nach dem Zusatz, 5, 15 und 30 Minuten danach, wurde auf Agglutination, Bildung von Stechapfelformen und Hämolyse makro- und mikroskopisch geprüft. Zur Kontrolle diente ebenso verdünntes Menschenserum.

Es zeigte sich, daß die plötzliche intensive Agglutination zu kompakten, schon makroskopisch ersichtlichen Haufen bei Verdünnungsgraden über 1:128 für Rinderserum, 1:32 für Schweineserum nicht immer eintrat, daß aber immerhin dem bewaffneten Auge eine deutliche Unterscheidung von den Kontrollpräparaten bis zu Verdünnungsgrenzen von 1:512 für Rinderserum, 1:256 für Schweineserum möglich war.

Die in der zweiten Mitteilung von Marx und Ehrnrooth erfolgte Aufforderung, in zweifelhaften Fällen den Rand des mit einem Deckglas bedeckten Präparates zu untersuchen, da hier das Agglutinationsphänomen im allgemeinen sich deutlicher ausgesprochen zeige, kann ich billigen; muß aber hier ausdrücklich vor einer Verwechslung mit jener Schichtenlagerung der Blutkörperchen älterer Präparate warnen, wie sie offenbar als Resultante kapillarer Druck- und Saugwirkungen zustande kommen und so eine Agglutination vortäuschen können.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich:

1. daß die Agglutinationskraft heterologer Seren

sofort nach dem Zusatz meiner Blutkörperchen innerhalb gewisser Verdünnungsgrenzen (für Rinderserum 1:128, für Schweineserum 1:32) noch einen exakten Aufschluß über die Artgleichheit oder Verschiedenheit des Serums zu geben vermag;

2. daß diese Agglutinationskraft für verschiedene Serumarten den Menschenblutkörperchen gegenüber nicht gleich groß ist;

3. daß innerhalb der ersten 15 Minuten der Beobachtungszeit diese Verdünnungsgrenzen noch eine geringgradige Erweiterung erfahren (1:512, beziehungsweise 256);

4. daß in vielen Fällen, wo der starken Verdünnung des Serums wegen die Agglutination nicht mehr mit Sicherheit nachzuweisen ist, die Bildung von Stechapfelformen und Hämolyse eine sichere Diagnose zu gestatten scheint.

5. Endlich zeigte es sich, daß über bestimmte Grenzen hinaus (1:512—1024) eine sichere Unterscheidung nicht getroffen werden konnte, da sich die mit so verdünnten heterologen Seren hergestellten Präparate nur undeutlich oder gar nicht von den Kontrollen unterscheiden ließen.

Diese letztere Tatsache erscheint nun für die forense Praxis von einschneidender Bedeutung, da sie uns lehrt, daß in allen jenen Fällen, in denen es nicht gelingen sollte, aus dem gegebenen Material Verdünnungen innerhalb der oben angeführten Grenzen herzustellen, aus dem negativen Ausfall der Probe nicht auf eine Gleichartigkeit des Serums oder der Blutlösung geschlossen werden darf.

In diesen Fällen tritt nun freilich die schärfere Präzipitinprobe in ihre Rechte; immerhin scheint es aber, da wir ja im praktischen Fall nie bestimmen können, mit welchen Blutverdünnungen wir arbeiten, auch dann noch mißlich, aus einem zweideutigen und einem eindeutigen Resultate ein sicheres Urteil sich zu gestatten.

Es erscheint mir daher nicht unwichtig, einer Kontrollierungsart hier Erwähnung zu tun, die es mir in einzelnen Fälle mit Sicherheit zu sagen gestattet, ob der negative Ausfall der Marx-Ehrnroothschen Probe auf Artgleichheit der Blutlösung oder auf deren allzu große Verdünnung zurückzuführen ist.

Die Ueberlegung, die dieser Kontrolle zugrunde liegt, ist folgende: Habe ich eine Eiweißlösung von unbekannter Konzentration (also den in der Praxis gegebenen Fall), und gibt mir diese Lösung mit meinen Blutkörperchen keine Agglutination, so darf ich dann nach dem oben Gesagten a priori aus dem negativen Ausfalle noch nicht mit apodiktischer Sicherheit auf die Anwesenheit einer homologen Eiweißlösung schließen, da ja auch die zulässige Verdünnungsgrenze überschritten sein kann. Diese zweite Möglichkeit kann ich nun dadurch ausschließen, daß ich der fraglichen Lösung Blutkörperchen einer oder verschiedener Tierarten zusetze, die für die forense Praxis gewöhnlich nicht in Betracht kommen.

Ein neuerlich negativer Ausfall dieser Proben würde mir nun mit Sicherheit den Schluß gestatten, daß in diesem Falle die Leistungsfähigkeit der Methode überschritten ist und ein eindeutiges Resultat von ihr nicht zu erwarten steht. Fallen aber diese neuen Proben deutlich positiv aus, d. h. tritt mit diesen anders gearteten Blutkörperchen stürmische Agglutination, Deformierung und Hämolyse in die Erscheinung, so vermag ich nun mit apodiktischer Gewißheit zu behaupten, daß es sich hier um eine den zuerst zugesetzten Blutkörperchen homologe, in unserem Falle also um eine menschliche Eiweißlösung handle, da ja das Blut anthropoider Affen in unseren Gegenden nicht in Betracht kommt. Zur praktischen Durchführung dieser Versuchsanordnung schien es mir zunächst wichtig, festzustellen, wie sich die Verdünnungsgrenzen der verschiedenen Seren den Blutkörperchen der Versuchstiere gegenüber verhalten. Ich verwendete zu diesen Versuchen ausschließlich Kaninchenblut, das ich direkt aus der Ohrvene des Tieres den Serumproben zusetzte, und zwar aus der Ueberlegung heraus, daß das Blut dieses Tieres in unseren Gegenden wenigstens für die Praxis kaum in Betracht zu ziehen ist. Im Ernstfalle aber würde ich immer auch das Blut anderer Laboratoriumstiere, wie von Meerschweinchen, Katzen und Mäusen, zu weiteren Kontrollen verwenden. Ueber die oben gestellte Frage belehrte mich:

Versuch 3. Genuines Serum des Menschen, des Kaninchens, des Rindes und Schweines wird in der einen Versuchsreihe mit Menschenblut, in der zweiten mit Kaninchenblut versetzt und wie bei Versuch 2, was die Methodik und Zeitdauer der Untersuchung anlangt, vorgegangen.

Ich konnte beobachten, daß sich die angewandten Seren dem Kaninchenblutkörperchen gegenüber fast innerhalb derselben Grenzen ebenso verhalten wie zu meinen eigenen. Nur das Menschenserum zeigte zunächst geringere Agglutinationswerte, die sich aber bei fortgesetzter Beobachtung wesentlich vergrößerten (1:256).

Es erschien mir ferner von Wichtigkeit, die Angaben Marx-Ehrnrooths zu prüfen, daß vorgeschrittene Fäulnis das Ergebnis der Probe nicht ungünstig beeinflusst:

Versuch 4. A. Menschenblut, 48 Tage bei Zimmertemperatur verfäult, von penetrantem Geruche, in eine schwärzliche, dickflüssige Masse verwandelt, wird als solches sowie in verschiedenen Verdünnungsgraden durch Zusatz meiner Blutkörperchen untersucht. Nach 15 Minuten keinerlei Agglutination, keine Deformierung.

B. Rinderblut, ebenfalls 48 Tage bei Zimmertemperatur verfäult, von derselben Eigenschaft, agglutiniert unverdünnt und in verschiedenen Verdünnungsgraden meine Blutkörperchen stürmisch und löst sie auf. Die Verdünnungsgrenze erscheint hier allerdings gegenüber dem genuinen Serum etwas verkleinert.

Kaninchenblut wurde von beiden Proben energisch agglutiniert.

Ueber den Einfluß hoher und niedriger Temperaturen geben folgende Versuche Aufschluß, wobei der größeren Kürze halber ein positiver, fraglicher oder negativer Ausfall der Agglutination oder der Hämolyse als A +, A ?, A —, H +, H ?, H — bezeichnet wird:

Versuch 5. A. Rinderblut seit 56 Tagen auf Leinwand getrocknet und im Thermostaten bei 35° gehalten, mit physiologischer Kochsalzlösung gelöst, gibt mit Menschen- und Kaninchenblut: A +, H +.

B. Menschenblut, denselben Versuchsbedingungen ausgesetzt, gibt mit Menschenblut: A —, H —; mit Kaninchenblut: A +, H +.

C. Rinderblut 56 Tage hindurch auf Leinwand getrocknet, der Winterkälte ausgesetzt, gibt, in + 0,6% NaClLösung gelöst, mit Kaninchen- und Menschenblut: A +, H +.

Ebenso behandeltes Menschenblut mit Menschenblut: A —, H —; mit Kaninchenblut: A +, H +.

D. Rinderblut auf Leinwand getrocknet und seit 56 Tagen bei 60° gehalten, gibt 24 Stunden lang in Kochsalzlösung gelöst: mit Menschenblut: A —, H ?; mit Kaninchenblut: A —, H +.

Ebenso behandeltes und gelöstes Menschenblut zeigt mit Menschenblut: A —, H —; mit Kaninchenblut: A —, H +?

Die Erscheinung der Stechapfelformbildung und Hämolyse war in diesem Falle so unausgesprochen, daß ich im Ernstfalle eine Entscheidung zu treffen mir nicht erlaubt hätte.

Es scheint daher längerer Aufenthalt bei höheren Wärmegraden die Agglutinationskraft des Blutes aufzuheben, was ja altbekannten Tatsachen entspricht. — Endlich untersuchte ich eine Reihe von Blutflecken, welche seit Jahren in dem Museum unseres Institutes aufgehoben waren, und kam damit zu folgenden Resultaten:

Versuch 6. 1. Blut auf Holz vom 15. März 1867, also 37 Jahre alt. Es werden einige Splitterchen drei Tage lang mit physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur extrahiert. Die Lösung erscheint schwach rotbraun gefärbt. Sie gibt: a) mit Menschenblut: A + +, H ?; b) mit Kaninchenblut: A + +, H +.

2. Blut auf Leinwand, 24 Jahre alt. Ein kleines Stückchen wird fein zerschnitten wie sub 1 behandelt und die blaß rötlich gefärbte Lösung gibt: a) mit Menschenblut: A —, H —; b) mit Kaninchenblut: A +, H +, woraus mit Sicherheit der Schluß auf Menschenblut zu ziehen erlaubt ist.

3. Holzspäne mit Vogelblut aus dem Jahre 1886. Ebenso behandelt: die Lösung gibt: a) mit Menschenblut: A +, H ?; b) mit Kaninchenblut: A +, H +.

4. Vogelblut aus dem Jahre 1868, in Substanz getrocknet und wie die früheren Proben behandelt, ergibt: a) mit Menschenblut: A + +, H ?; b) mit Kaninchenblut: A +, H +.

5. „Menschenblut 1874“, gelöst, ergibt: a) mit Menschenblut: A —, H ?; b) mit Kaninchenblut: A + +, H + +, wodurch die Richtigkeit der Signatur bestätigt erscheint.

6. „Blut, zehn Jahre alt“, gelöst, ergibt a) mit Menschenblut: A +, H +; b) mit Kaninchenblut: A +, H +.

Es konnte also in allen diesen dem Ernstfalle angepaßten Fällen mit Sicherheit die Frage nach Menschen- oder Tierblut im Hinblick auf die Marx-Ehrnroothschen Angaben über die geringe Haltbarkeit der Isoagglutinine entschieden werden.

Was nun die Frage nach diesen Isoagglutininen und die durch sie bedingten Fehlerquellen anlangt, so muß ich nach meinen bisherigen Erfahrungen annehmen, daß ich mich in der-

selben Lage wie Marx befinde: auch meine Blutkörperchen scheinen mir zu den unempfindlichen zu gehören, da es mir bis jetzt noch nicht vorgekommen ist, daß irgend ein menschliches Serum diese agglutiniert hätte. Ich will auf diese Frage in einer späteren Arbeit nach eingehender Erprobung der neuen Marx-Ehrnroothschen Modifikation zurückkommen, möchte aber gleich hier erwähnen, daß die so bedingten Fehlerquellen, wenn sie auch durch die Modifikation nicht völlig aus der Welt geschafft werden, was ja kaum zu erwarten steht, für die Beurteilung dieser Methode deshalb nicht von ausschlaggebender Bedeutung sind, weil wir dadurch höchstens einmal in die Lage kommen können, Menschenblut für Tierblut zu erklären, was sicherlich von geringeren Folgen begleitet wäre, als wenn die andere Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden könnte. Außerdem steht uns ja immer die Präzipitinprobe zur Kontrolle der Resultate zur Verfügung.

Ich bin am Schluß meines Berichtes angekommen und möchte den Eindruck, den ich von der neuen Methode empfangen habe, dahin zusammenfassen, daß sie eine außerordentlich einfach zu handhabende und daher nur um so wertvollere Ergänzung unserer forensen Untersuchungsmethoden darstellt, daß sie — die oben angegebenen Kontrollen mit andersartigen Blutkörperchen vorausgesetzt — in vielen Fällen gestatten wird, mit Sicherheit über die Artgleichheit oder Artverschiedenheit gegebener Eiweißlösungen zu entscheiden.

Da wir außerdem durch das oben beschriebene Kontrollverfahren in jedem Falle in der Lage sind, die Leistungsfähigkeit oder das Imstichelassen der Methode zu überwachen, so dürfte sich aller Wahrscheinlichkeit nach diese Untersuchungsart als wichtige Hilfsreaktion der Präzipitinprobe angliedern.

Endlich möchte ich hier noch hervorheben, daß auch dieses Verfahren nur unter der Voraussetzung „eine einfache Methode zur forensischen Untersuchung von Menschen- und Säugetierblut“ genannt zu werden verdient, wenn zuerst mit altbewährten Proben tatsächlich der Beweis erbracht worden ist, daß der zur Untersuchung gelangende eiweißhaltige Fleck aus Blut besteht.

Literatur: 1. Marx und Ehrnrooth, Münchener medizinische Wochenschrift 1904, No. 7 und 16. — 2. Uhlenhuth, Deutsche medizinische Wochenschrift 1901, No. 6. — 3. Wassermann, Berliner klinische Wochenschrift 1901, No. 7. — 4. Hauser, Münchener medizinische Wochenschrift 1904, No. 7. — 5. Landois, Artikel „Transfusion“ in Eulenburgs Realenzyklopädie 1890. — 6. Landsteiner, Zentralblatt für Bakteriologie 1900, Bd. 27, S. 357. — 7. Nuttall, The Journal of hygiene I, No. 3, July 1901.